- **L3 Génétique / Genetics**

Cécile FAIRHEAD: cecile.fairhead@u-psud.fr
(Magistère)

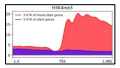
Fabienne MALAGNAC : fabienne.malagnac@u-psud.fr
(Biologie Santé)

1

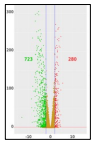
3 enseignants chercheurs
1 chercheur émérite
3 doctorants
1 étudiant M2 GenE2
1 apprentie Lic. Pro.
➢ 1 assistant.e ingénieur.e

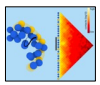
Génétique

Epigénétique



Génomique





Cheffe d'équipe

Modélisation &
Intégration de données

Professeure

Directrice adjointe ED

Concours allocations doctorales
Accompagnement des doctorants

université PARIS-SACLAY
ÉCOLE DOCTORALE
Structure et dynamique des systèmes vivants (SDSV)

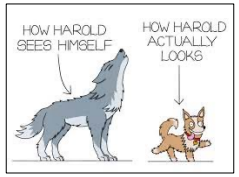
250 doctorants

https://www.i2bc.paris-saclay.fr/esuipe-fungal-epigenomics-and-development/

2

Pourquoi étudier la génétique ?

La génétique s'intéresse à la manière dont l'information contenue dans l'ADN contrôle l'apparence et le fonctionnement d'un organisme



Tous les êtres vivants sont concernés !

Développement
Évolution
Spéciation

molécules ⇦ **génétique** ⇨ **populations**

Décryptage des génomes
Expression des gènes
Impact des mutations

Évolution des organismes
Évolution des espèces

https://www.gen.cam.ac.uk/undergraduate/whygenetics

3

L3 Génétique BS

9 cours, 3H/2H = 18H

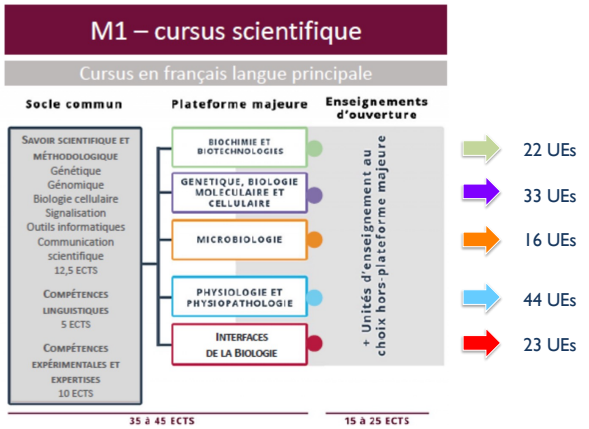
12 TDs 3H/2H = 27H ⟷ 10 TPs AP = 30 H

❖ Modalités de contrôle des connaissances:
- Epreuve écrite cours/TD (2H)
- Contrôle continu TP (1H)

=> Socle de compétences nécessaires à
- **Génomique**
- **Épigénétique**

4

M1 Biologie Santé Paris Saclay



5

Programme Génétique L3 BS

Rappels :

- rappels des notions indispensables (historiques, biologiques & définitions)
- mutants, mutagénèse, dommages et réparation de l'ADN
- ségrégation un et deux couples d'allèles chez les eucaryotes
- parasexualité bactérienne : transformation, conjugaison, transduction

Nouvelles notions :

- Test de fluctuation : fréquence de mutation
- Test trois points : nouvelle approche de la distance génétique
- mutagénèse par insertion de transposons
- Complémentation fonctionnelle & exceptions
- Interactions géniques : mécanismes de la suppression génétique, épistasie
- Introduction à la transgénèse (génétique inverse) et à la modification de génomes (CrispR / Cas9)
- Eléments de génétique humaine

6

Objectifs du cours

✓ **Aspects formels :**
l'étude du mode de transmission de cette information

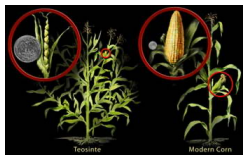
✓ **Aspects moléculaires :**
l'étude de la façon dont s'exprime cette information

7

Domestication : maîtrise de la reproduction

✓ **du bétail**

✓ **des plantes cultivées**



➢ **Sélection des individus pour la reproduction sexuée**

8

Conclusions empiriques héritées des pratiques agriculturales :

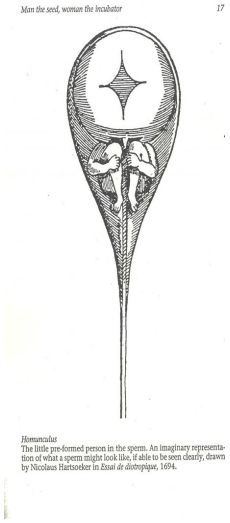
- ✓ Au cours de la reproduction sexuée, les parents transmettent à leur descendance une information qui permet la "construction de l'individu"

- ✓ Il y a une transmission quasi à l'identique de cette information: la transmission est donc en très grande partie INVARIANTE

Mais de petites variations peuvent néanmoins apparaître d'un individu à l'autre au sein d'une même espèce :

- Couleur du pelage chez de nombreux mammifères
- Couleur des fleurs chez les plantes à fleurs

9



Homunculus
The little pre-formed person in the sperm. An imaginary representation of what a sperm might look like, if able to be seen clearly, drawn by Nicolaus Hartsoeker in *Essai de dioptrique*, 1694.

Comment expliquer la continuité de la forme à travers les générations ?

- ❖ Jusqu'au 17ème siècle: **Préformation** (Aristote, Spallanzani, etc.):
  - ➢ S'il ya maintien de la forme de génération en génération, c'est que celle-ci préexiste à travers les semences
  - ➢ Le «germe» du futur corps vivant est «préformé» dans la semence
  - ➢ Dans les gonades d'un organisme, il y a, emboités comme des poupées russes, une infinité d'êtres à venir

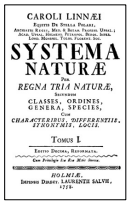
Tout être vivant commence par un embryon qui lui ressemble déjà

- ❖ A partir du 18ème siècle: **épigénèse** (Buffon, Maupertuis, etc.):

Un embryon se développe en devenant de plus en plus complexe

10

De l'empirique à la démarche scientifique


CAROLI LINNÆI
SYSTEMA NATURÆ
REGNA TRIA NATURÆ,
CLASSES, ORDINES, GENERA, SPECIES,
CHARACTERIBUS, DIFFERENTIIS, SYNONYMIS, LOCIS.
TOMUS I.
HOLMIÆ,

➥ Carl von Linné (1707-1778)
Classification systématique du vivant
Instauration d'une nomenclature binominale
toujours en vigueur
Fratercula arctica

QUADRUPEDIA.
Ordo I.
ANTROPOMORPHA.

Canis lupus - Canis lupus familiaris
https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/162663/tab/taxo

➥ Georges Louis Leclerc de Buffon (1707-1788)
Introduction de la notion génétique d'espèce vers 1750

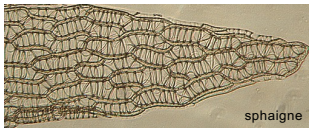
➥ Ernst Mayr (1904-2005)
Une espèce = groupe d'individus interféconds
engendrant une descendance elle-même fertile

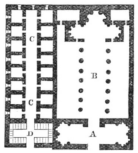
11

Tout organisme est constitué de cellules

Qui ?

✓ Robert Hooke (1664) :
Observation au microscope de liège :
organisation du tissu comparable aux petites chambres des monastères ou cellules monacales, le concept cellule biologique est né !





✓ Mathias-Jacob Schleiden et Théodore Schwann (1839) :
Théorie cellulaire : tous les êtres vivants sont composés de cellules dont la structure fondamentale est commune

➢ Unité de tout le vivant

12

Toute cellule naît d'une cellule

Qui ?

✓ Macro-organismes

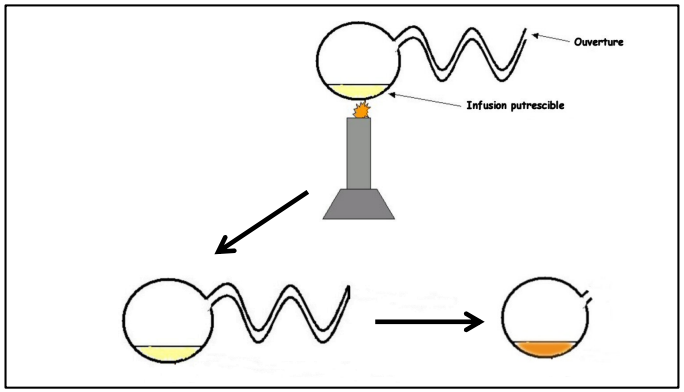
Francesco Redi (1626-1697) :
Pas de génération spontanée de vers à partir de viande crue en 1668

✓ Micro-organismes

Lazzaro Spallanzani (1729-1799)
puis
Louis Pasteur (1822-1895)

13

Expérience de Louis Pasteur 1864



➢ **Toute cellule naît d'une cellule**
➢ **La génération spontanée n'existe pas**

14

Vers une définition génétique de la vie ?

✓ Définition de la vie selon la NASA:
- ➢ se reproduit
- ➢ évolue

✓ Définition de la vie sur terre selon les biologistes:
- ➢ la cellule
- ➢ l'ADN

15

Bases de la génétique formelle

✓ Découverte initiale vers 1865 Gregor Mendel (1822-1884) :
« Essai sur l'hybridité des plantes »

- ➢ Etude de la manière dont des propriétés particulières à différentes lignées de pois sont transmises d'une génération à l'autre

Propriétés particulières gouvernées par des « facteurs » ⇒ **CARACTERES**

16

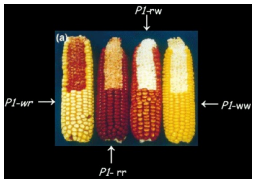
CARACTERE

=

Caractéristique morphologique ou biologique pour laquelle on dispose de spécimens, à l'intérieur d'une même espèce, qui montrent une différence **HERITABLE**, c'est à dire se transmettant d'une génération à une autre

17

EXEMPLES



Polymorphisme

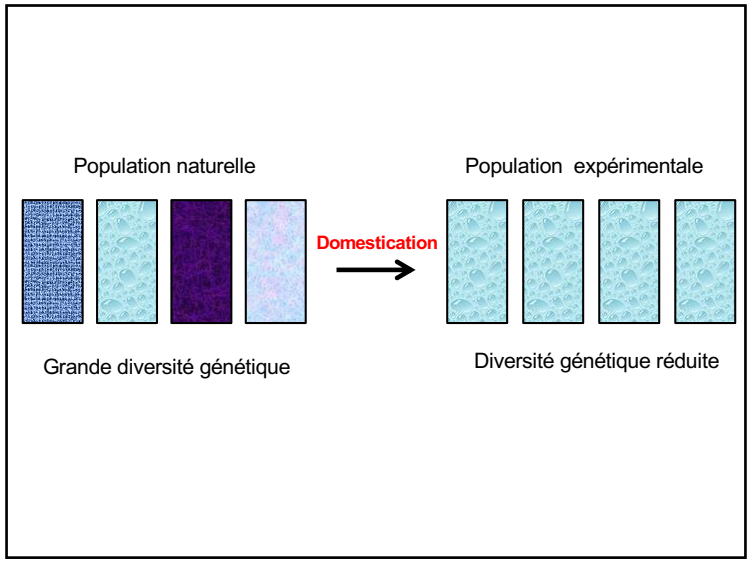
18

Polymorphisme

Population expérimentale

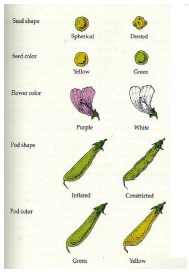
Population naturelle

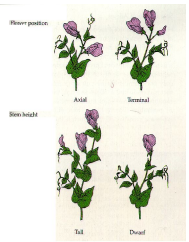
19



20

Gregor Mendel





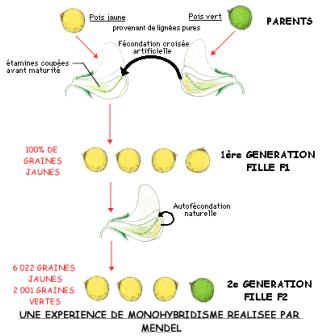
La reproduction d'une forme, d'un caractère exige la transmission d'une mémoire d'une génération à l'autre (fin du 19éme siècle)

21

Hypothèses de Mendel

Distinguer ce que l'on voit (le caractère ou phénotype) de ce qui sous tend ce caractère (gène(s))

- ✓ Un individu possède 2 copies de l'information
- ✓ Pour cela il a reçu une copie de chacun de ses parents
- ✓ Chacune des copies est transmise avec la même probabilité



**** Uniformité des hybrides de première génération***
-> chaque gamète ne contient toujours qu'un seul facteur héréditaire pour un caractère donné

Première loi de Mendel

-> Les différentes versions d'un caractère se séparent et se réassortissent indépendamment

Deuxième loi de Mendel

-> Disjonction indépendante des caractères en F2

Troisième loi de Mendel

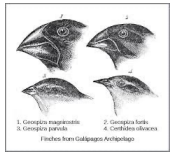
22

Découverte de l'évolution des espèces

Charles Darwin, naturaliste et géologue (1809-1882) :

1859 « On the origin of species »

27 décembre 1831 - 2 octobre 1836

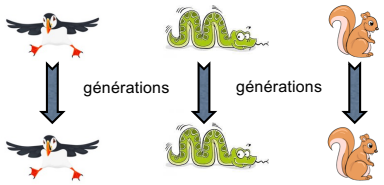


- 'transformisme' fin de la théorie du 'fixisme'

https://en.wikipedia.org/wiki/On_the_Origin_of_Species

23

Découverte de l'évolution des espèces

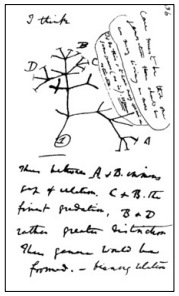


Fixisme :

- apparition indépendante de toutes les espèces
- pas de modification des espèces depuis leur apparition malgré un très grand nombres de générations écoulées

24

Découverte de l'évolution des espèces



1837

Théorie de l'évolution

- la biodiversité est le fruit d'une descendance commune par le biais d'un schéma d'évolution ramifié, soumis à la sélection naturelle

❖ **fin de la théorie du "fixisme" -> évolution des espèces au cours du temps et sélection naturelle des plus aptes, qui engendrent (plus) de descendants**

25

Découverte de l'évolution des espèces

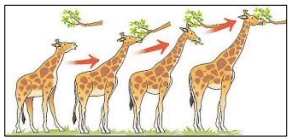
« la fonction crée l'organe »

sélection des plus aptes lors de la lutte pour l'accès au ressources

Sélection naturelle

Plus de descendants

Hérédité des caractères acquis



Jean-Baptiste Lamarck

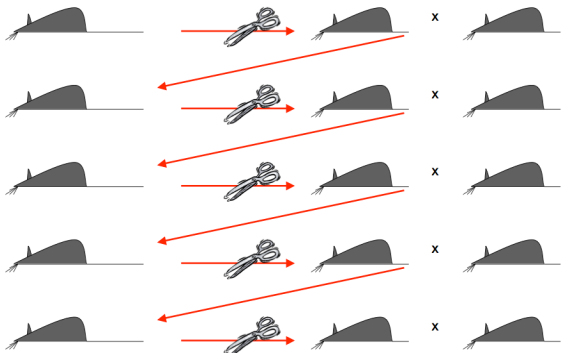
« l'organe crée la fonction »

usage intensif du cou chez la girafe modifierait cet organe, héritable

- lois de Mendel oubliées !

26

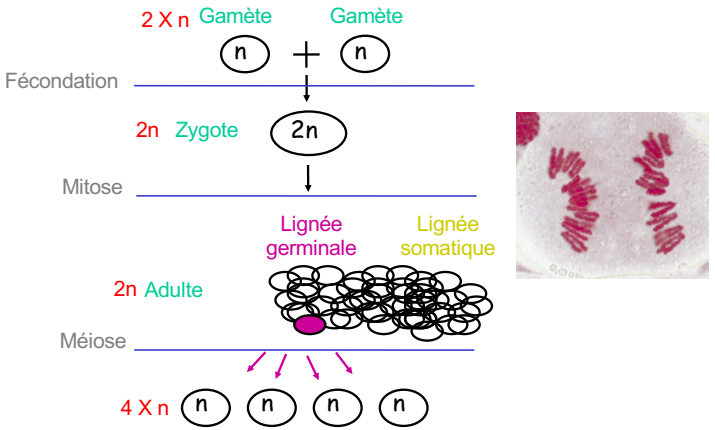
Pas d'hérédité des caractères acquis : germen & soma



August Weismann, fin19e siècle

27

La théorie chromosomique de l'hérédité



August Weissman (1902) : chromosomes = support de l'hérédité

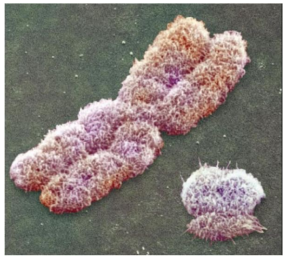
28

Redécouverte des lois de Mendel

Hugo de Vries & Carl Correns (~1900) => redécouverte des lois de Mendel

Wilhelm Johanssen (1909) => Une unité d'information discrètes postulées par Mendel appelée **GENE**

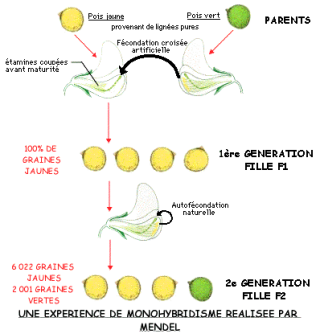
William Bateson (**~1910**)
=> 1 gène présente différentes formes **alléliques**
=> utilise le mot « génétique » pour nommer la science de l'hérédité



Les chromosomes à la méïose se comportent comme des facteurs mendéliens
=> Etablissement de groupes de liaison (**Thomas Morgan**)

29

Redécouverte des lois de Mendel



A/A

Gamète femelle
A

a/a

Gamète mâle
a

Descendants de 1ère génération: A/a

Le caractère conféré par A est dominant

Pollen \ Gamètes femelles	A	a
A	A/A	A/a
a	A/a	a/a

30

Découverte de la transformation génétique

Frederick Griffith (1928)

Caractérisation moléculaire du « principe transformant » : ADN

O. Avery, C. McLeod, M McCarthy (1943)

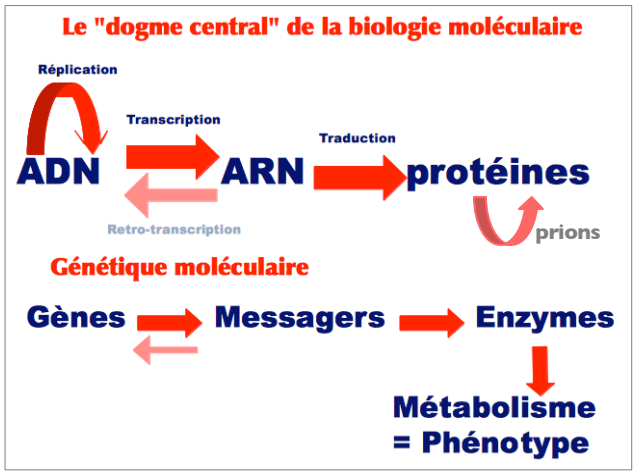
Structure de l'ADN

J. Watson et F. Crick (1953)

Code génétique

M. Nirenberg, G. Khorana et R. Holley (1968)

31

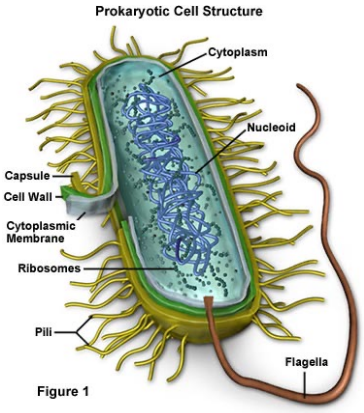


32

Rappels biologiques

33

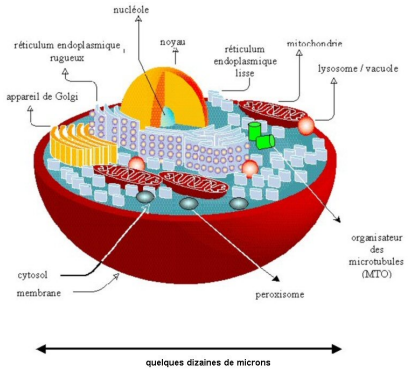
Cellule Procaryote



- Unicellulaire
- Division par fission
- Pas de reproduction sexuée
- Souvent 1 chromosome circulaire
- Paroi complexe
- Pas de réseau de membrane interne
- Pas de cytosquelette
- Pas d' endocytose

34

Cellule Eucaryote



- Unicellulaire & pluricellulaire
- Division par mitose
- Reproduction sexuée (méiose)
- Noyau & organelles
- Cytosquelette
- Endocytose

35

Cycles de vie

Reproduction sexuée -> eucaryotes

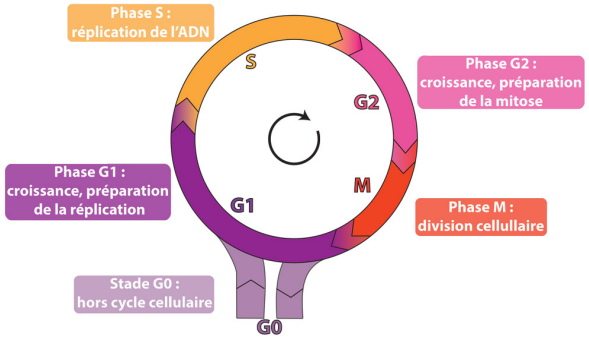
bactéries = procaryotes -> pas de méiose

➢ Procaryotes : Perpétuation à l'identique par clonage (fissions) ?

NON ! -> **PARASEXUALITE**

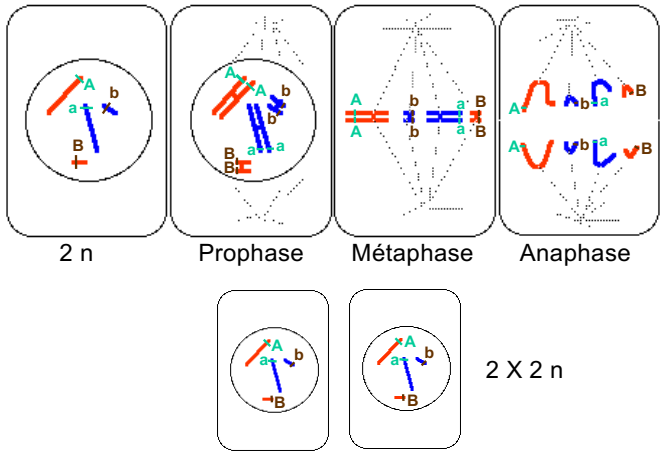
36

Cycle cellulaire et mitose



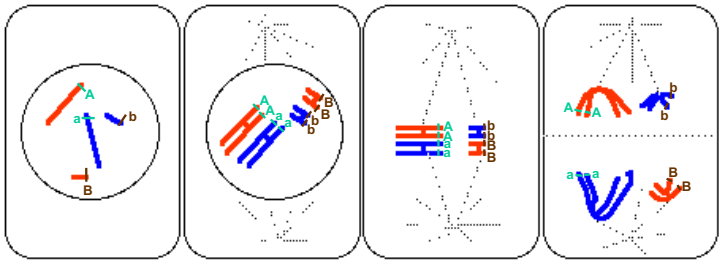
37

MITOSE



38

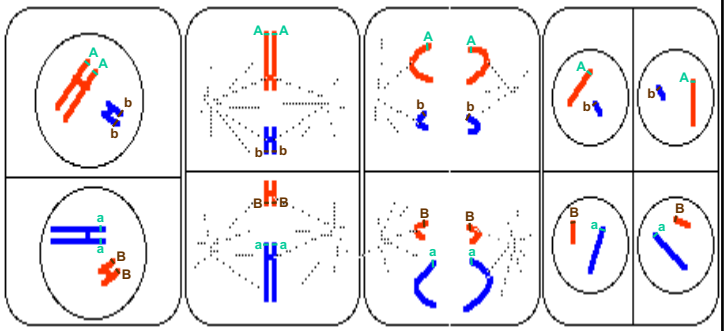
Méiose I : Division Réductionnelle



2 n | Prophase | Métaphase | Anaphase

39

Méiose II : Division Equationnelle



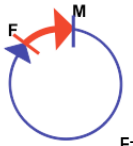
Prophase | Métaphase | Anaphase
4 X n

40

Modèles eucaryotes

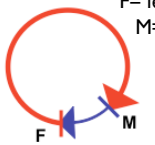
Si reproduction sexuée, cycle de vie: **alternance** phase haploïde (1n) et diploïde (2n)

✓ Cycle **haplobiontique**: phase **haploïde** dominante champignons (*S. pombe*, *N. crassa*, *C. reinhardtii*)



F= fécondation
M= méiose

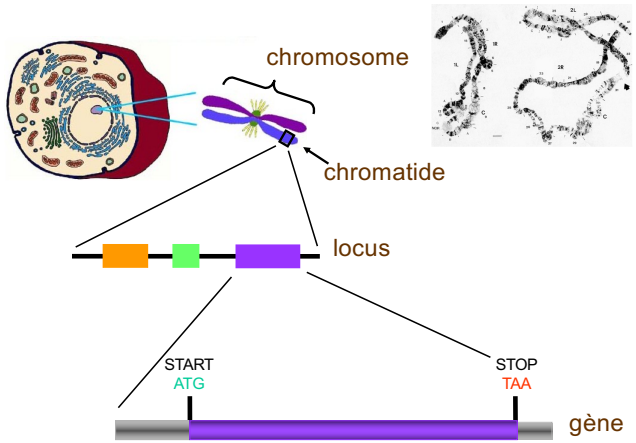
✓ Cycle **diplobiontique**: phase **diploïde** dominante, animaux, plantes



✓ Cycle **haplodiplobiontique**: phases de même durée ou bien croissance possible dans les deux états (*S. cerevisiae*)

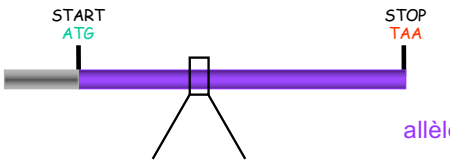
41

Définition physique d' un gène



42

Définition fonctionnelle d'un gène

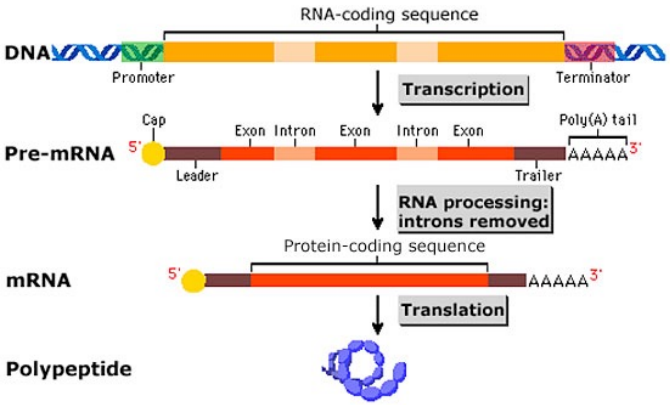


	allèles		
-CGGATCCGAAATTCGGTAC-	T $^{+}$		Sauvage « référence »
-CGGATCCGAAGTTCGGTAC-	T1 $^{-}$		mutant1
-CGGATCCCAAATTCGGTAC-	T2 $^{-}$		mutant2
-CGGATCCGAAATTCGGAAC-	TA		Sauvage mutation neutre
-CTGATCCGAAATTCGGTAC-	T3 $^{-}$		mutant3

➢ Pour chaque gène : très grand nombre d'allèles possibles

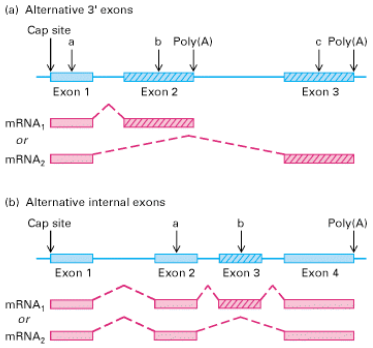
43

Organisation et structure des gènes chez les eucaryotes



44

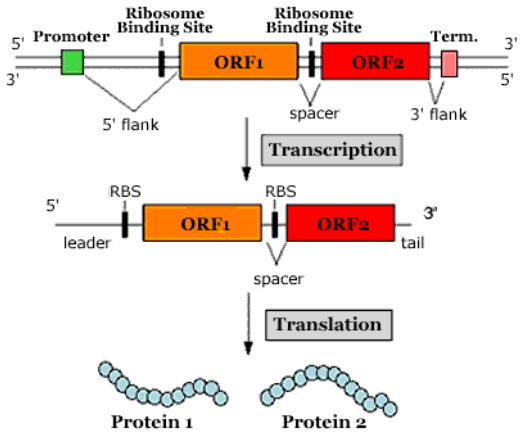
Epissage alternatif



- Un gène = plusieurs protéines

45

Organisation et structure des gènes chez les procaryotes



46

Rappels de définitions

47

GENOME
=
ensemble de tous les gènes d'un organisme

https://www.gene2.fr/le-master1

GENOTYPE
=
contenu en formes alléliques d'une souche donnée

48

✓ **Polymorphisme :**
Le fait qu'il existe plusieurs formes d'un caractère dans une population

✓ **Allèle :**
Une des nombreuses forme d'un gène

✓ **Homozygotie :**
Chez un organisme diplobiontique, le fait de porter le même allèle d'un gène donné sur les deux chromosomes homologues

✓ **Hétérozygotie :**
Chez un organisme diplobiontique, le fait de porter le deux allèles différents d'un gène donné sur les deux chromosomes homologues

49

✓ **Souches pures :**
Population expérimentale dont tous les individus possèdent le même génotype ce qui signifie que tous les gènes sont homozygotes

populations expérimentales ≠ **populations naturelles**

Sélection artificielle

- races
- variétés
- souches

souches de référence

Canis lupus familiaris

Canis lupus

50

✓ **Dominant :**

Un phénotype est dominant s'il suffit qu'un seul des deux gamètes parentaux possède l'allèle correspondant pour conférer ce phénotype à la descendance.

✓ **Récessif :**

Alternativement, un phénotype est récessif s'il est nécessaire que les deux gamètes portent l'allèle correspondant

51

un même phénotype

=

un même génotype

FAUX

$\frac{T}{T}$

[lisse]

$\frac{T}{t}$

[lisse]

52

Lignée pétunia fleurs rouges

Lignée pétunias fleurs blanches

Première génération = F1

F1 homogène : 100% fleurs roses

CARACTERE SEMI-DOMINANT

53

GROUPES SANGUINS

Homme [A]

Femme [B]

Première génération = F1

Enfants [AB]

F1 homogène

CARACTERE CO-DOMINANT

54

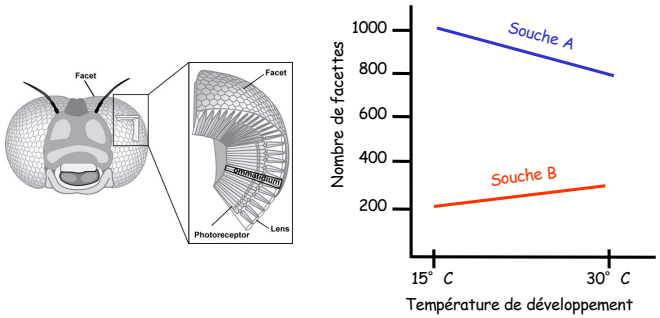
un même génotype
=
un même phénotype

FAUX

⇨ Le phénotype peut résulter de l'interaction entre le génotype et l'environnement

55

EXEMPLE

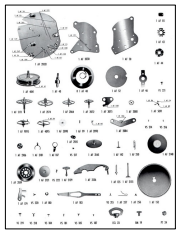


Norme de réaction : ensemble des valeurs que peut prendre un phénotype en fonction des conditions environnementales

56

La démarche génétique

- Implique l'utilisation de variants génétiques (mutants) pour perturber la fonction biologique des cellules ou des organismes et, à partir de l'effet de ces mutations, en déduire le fonctionnement des cellules et des organismes.



57

La démarche génétique

Drosophila melanosgaster

Souche sauvage de référence

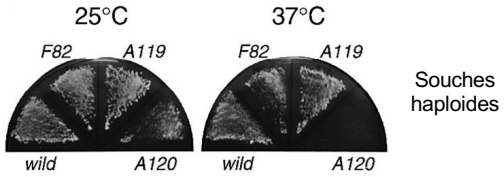
Souche mutante

Absence de pigment

Gène muté ('white') impliqué dans la synthèse de pigment

58

ALLELES CONDITIONNELS



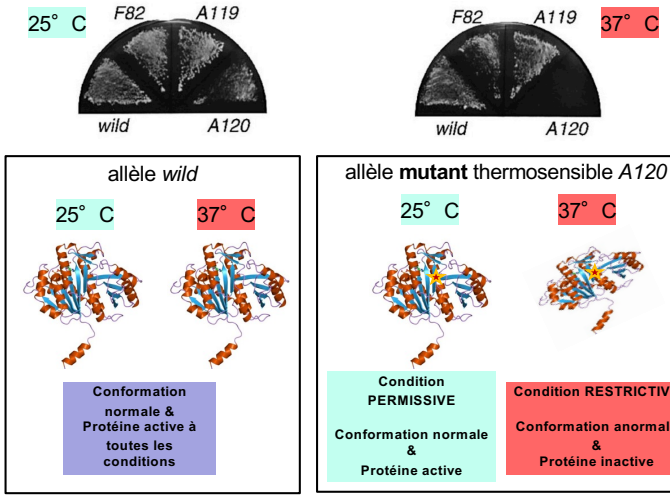
1 SSR et 3 souches mutantes (3 mutation différentes) :
2 mutations thermostables + 1 mutation thermosensible

Si allèle confère sensibilité à haute température : **thermosensible**
Si allèle confère sensibilité à basse température : **cryosensible**

⇒ **Permet sélection de mutants impliqués dans des fonctions essentielles**

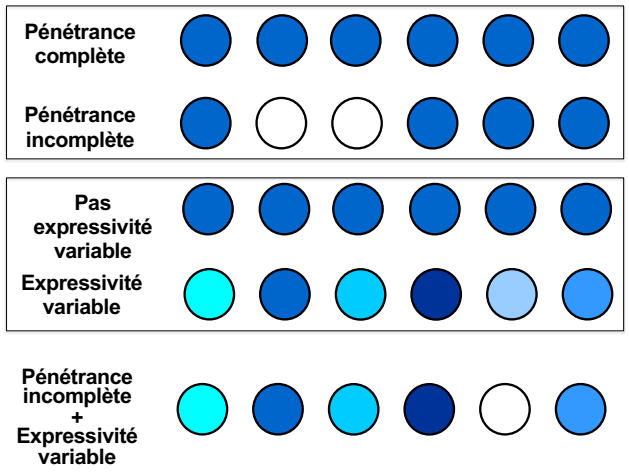
59

ALLELES CONDITIONNELS



60

Pénétrance et expressivité variables



61

Pénétrance (tout ou rien)

=

pourcentage d'individus présentant le phénotype pour un génotype donné dans des conditions données

Expressivité (expression graduelle)

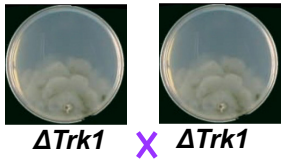
=

degré d'expression d'un génotype donné pour un individu donné

62

EXEMPLES

Pénétrance complète



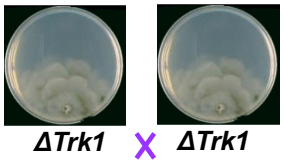
ΔTrk1 X *ΔTrk1*

↓

ΔTrk1
[Wavy]

100%

Pénétrance incomplète



ΔTrk1 X *ΔTrk1*

↓

ΔTrk1
[WT]

ΔTrk1
[Wavy]

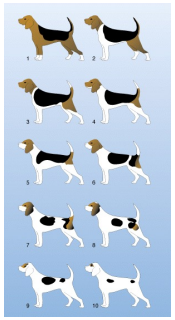
85% 15%

63

EXEMPLES

Expressivité variable

Locus S: spotting factor S^p



Chiens hétérozygotes S/S^p

64

EXEMPLES

Expressivité variable

Polydactylie chez les chats

Tous les chats dotés de l'allèle ont des doigts supplémentaires (pénétrance complète) mais leur nombre varie (expressivité variable)

65

Réalisation du phénotype

66

CHATS SIAMOIS & CHATS BIRMANS

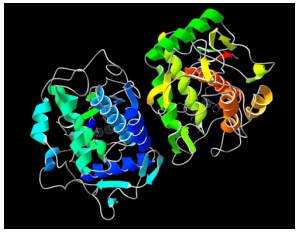
Gène couleur 'C' : C > c^b
C > c^s

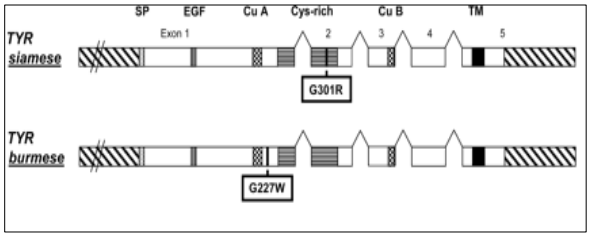
c^s/c^s c^s/c^s c^b/c^b c^b/c^b

c^s/c^s c^s/c^b c^b/c^b

67

Tyrosinase
Tyr





c^s

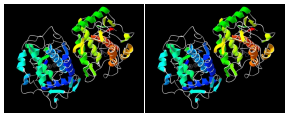
c^b

68

C^s et C^b SONT DES ALLELES CONDITIONNELS

Allèle C^+

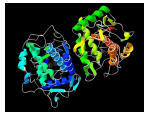
< 38° C | 38° C



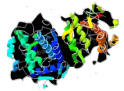
Conformation normale & Protéine active: synthèse de mélanine

Allèles **mutants** thermosensibles C^s et C^b

< 38° C | 38° C

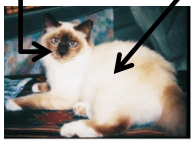


Conformation normale & Protéine active: synthèse de mélanine



Condition RESTRICTIVE

Conformation anormale & Protéine inactive



69

EVOLUTION DE LA COULEUR DES CHATS SIAMOIS

Les chats siamois naissent sans pigmentation

> 1 mois,
La couleur recouvre le nez, la queue se teinte

> 4 mois
La pigmentation est terminée : masque complet, oreilles et queue colorées, les chaussettes sont marquées

https://youtube.com/watch?v=uHC1XTF6b58

70

Mutants, mutagénèse, dommages et réparation de l'ADN

71

Mutations = altération de la séquence

- ✓ Une mutation peut concerner une seule paire de bases ou plusieurs paires de bases ou peut être une altération majeure de la structure du chromosome
- ✓ Une mutation peut être localisée dans une phase codante, dans un intron, dans un promoteur…
- ✓ Une mutation n'a pas toujours d'effet sur le phénotype
- ✓ Une mutation peut affecter la lignée somatique ou germinale

72

MUTAGENESE => induit des dommages à l'ADN

✓ spontanés

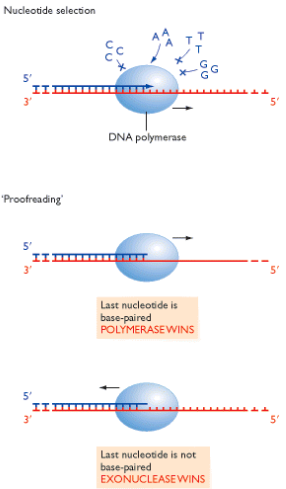
✓ induits (mutagènes biologiques, physiques, chimiques)

73

Dommages spontanés à l'ADN

✓ Erreurs lors de la réplication dûes au taux intrinsèque d'erreur des polymérases

➢ Aboutissent à des mésappariements (mismatches)



Polymérisation

Relecture (proof-reading)

1.10^{-7}

74

Dommages spontanés à l'ADN

✓ Erreurs lors de la réplication :

Formation de paires entre bases non complémentaires

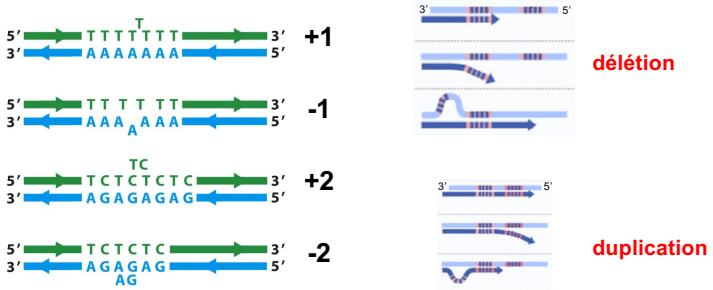
- G/T (tautomérisation pyrimidines)
- A/C (tautomérisation purines)

➢ Aboutissent à des mésappariements (mismatches)

75

Dommages spontanés à l'ADN

- Glissement lors de la réplication :



76

76

Dommages à l'ADN spontanés

- **Dépurination** (perte de la base, en général purine G ou A)

  => site abasique
  si non réparé, la polymérase peut introduire n'importe quel nucléotide en face du site abasique lors de la réplication

- **Désamination** (A =>hypoxanthine, C=>U)

  => changement d'appariement

  Désamination peut être spontanée ou induite (HNO_2)

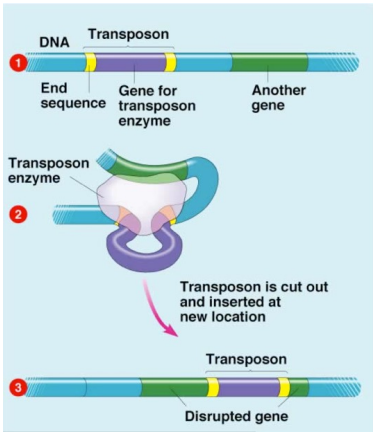
- **Dommage oxydatif** : respiration et métabolisme produisent des oxydants (H_2O_2, OH°...)

  => toutes sortes de modifications des bases

77

Dommages dûs à des mutagènes "biologiques"

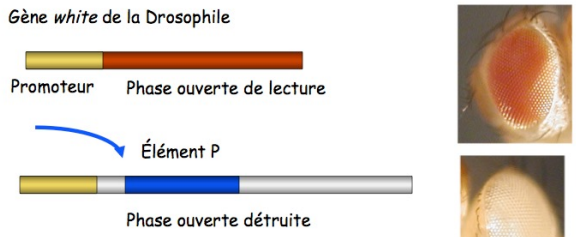
Transposons classe I : retrotransposons "copier-coller"

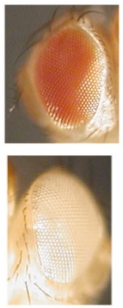


Transposons classe II : transposons ADN "couper-coller"

78

Chez la drosophile, le transposon "élément P" envahit les populations naturelles et cause de nombreuses mutations par insertion





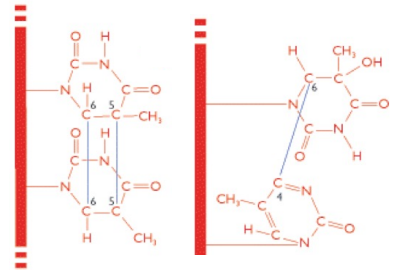
Transposons
classe II:
transposons ADN
"couper-coller"

79

Dommages induits = utilisation de MUTAGENES

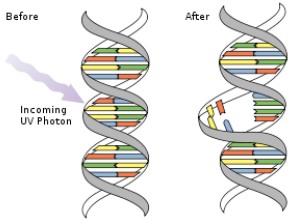
Mutagènes physiques

Rayonnement Ultra-violet



dimère de cyclobutane pyrimidine

photoproduit 6,4



distorsion de la double hélice, désappariement, problème à la réplication

Dimères de thymine, parfois dimères de cytosine => dimères de pyrimidines

80

Dommages à l'ADN induits = MUTAGENES

Mutagènes physiques

Rayonnement X et gamma : "radiations ionisantes"

Très energétiques, pénètrent profondément les tissus

-Effets mutagènes indirects : formation de radicaux libres qui peuvent altérer les bases de l'ADN.

-Effets mutagènes directs : cassures des liaisons phosphodiester (cassure simple-brin, cassure double-brin).

81

Dommages à l'ADN induits = MUTAGENES

Mutagènes chimiques

Agents modifiant les bases:

Acide nitreux => Désamination des A et des C, appariements abérrants (digestion des nitrites de charcuterie)

Ethyl Methyl Sulfonate (EMS), Ethyl Ethyl Sulfonate (EES) => Methylation ou Ethylation de G, qui s'apparie alors avec T

Gas moutarde => Alkylation des bases, appariements abérrants

Aflatoxines => site abasique à la place d'un G (dans les noix ou graines oléagineuse moisies)

et beaucoup d'autres....

82

Dommages à l'ADN induits = MUTAGENES

Mutagènes chimiques

Agents analogues des bases :

peuvent être incorporés à la place des purines et des pyrimidines pendant la synthèse des nucléotides et être incorporés dans l'ADN pendant la réplication.

83

Dommages à l'ADN induits = MUTAGENES

Mutagènes chimiques

Agents intercalants :

sensiblement la même taille que les paires de bases, s'intercalent entre les bases

=> distorsion de la double hélice, problèmes lors de la réplication/réparation

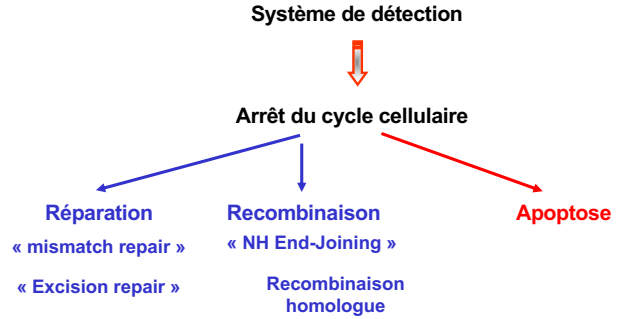
=> petites délétions, insertions

Proflavine, acridine orange, bromure d'ethidium, benzopyrène (fumées, viandes brûlée…)

Psoralène: intercalant qui induit des liaisons inter- et intra-chaîne. (plantes: figues, céleri, persil…)

84

Que faire ?



85

Réparation de l'ADN

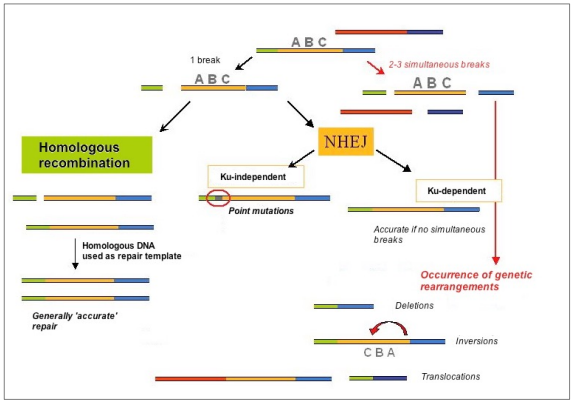
- ✓ Tous les organismes vivants ont des systèmes de réparation de l'ADN.
- ✓ La réparation peut aboutir à la séquence de départ
  - ➢ pas de mutation
- ✓ La réparation peut aboutir à une séquence différente
  - ➢ Mutation

=> Mécanismes de réparation des dommages à l'ADN : voir cours BM L3 S5

86

Réparation des cassures double brin

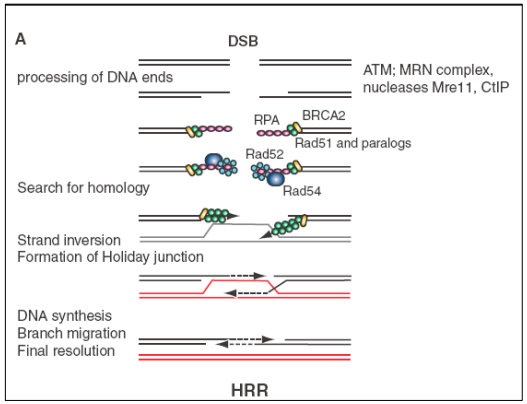
Non Homologous End Junction



87

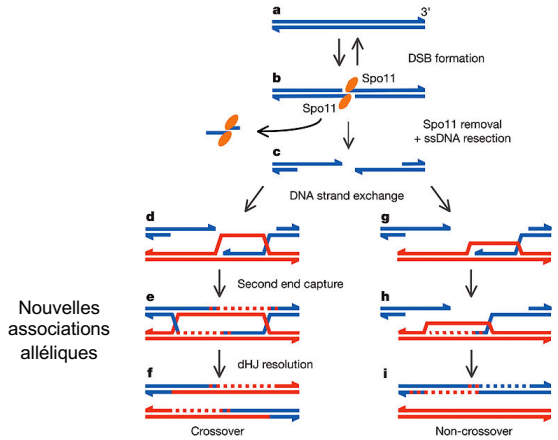
Réparation des cassures double brin

Recombinaison Homologue



88

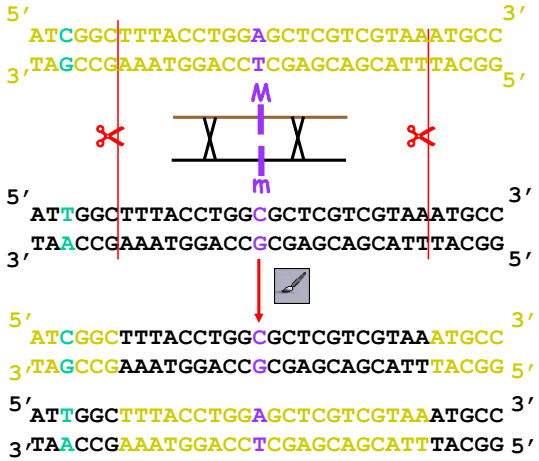
Cassures double brin programmées : méiose



Nouvelles associations alléliques

89

Recombinaison homologue : crossing-over



90

- ✓ Les génomes subissent donc constamment des lésions.
- ✓ Si les lésions ne sont pas réparées, cela est, souvent, fatal pour la cellule.
- ✓ Si les lésions sont réparées, les mécanismes de réparation peuvent entraîner une modification de la séquence de l'ADN, donc une mutation.
- ✓ Des modifications éventuelles de la séquence de l'ADN sont également dues aux erreurs des DNApolymérases.
- ✓ Les mutations ont un effet sur le phénotype, ou pas.
- ✓ Les mutations ayant un effet sur le phénotype peuvent être sélectionnées, contre-sélectionnées, ou neutres au cours de l'évolution.

91

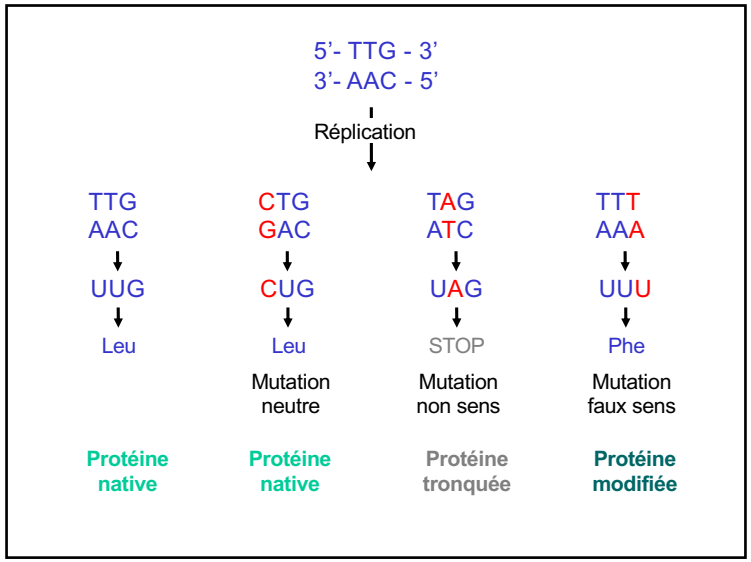
Dans une cellule humaine en culture et par division…

⇨
- 2.10^4 cassures simple brin
- 1.10^4 bases dépurinées
- 5.10^3 bases alkylées
- 2.10^3 bases oxydées
- 600 bases désaminées
- 10-20 cassures double brins

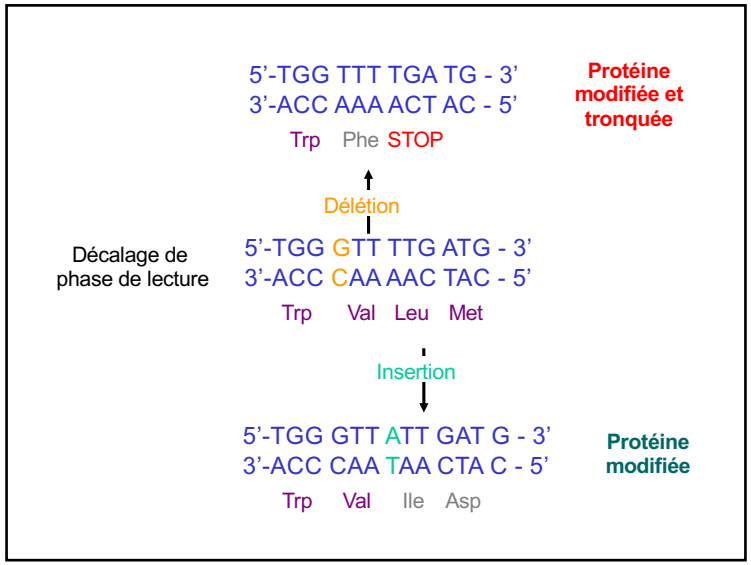
92

Effets moléculaires des mutations

93



94


5'-TGG TTT TGA TG - 3'
3'-ACC AAA ACT AC - 5'
Trp Phe STOP
Protéine modifiée et tronquée
Délétion
Décalage de phase de lecture
5'-TGG GTT TTG ATG - 3'
3'-ACC CAA AAC TAC - 5'
Trp Val Leu Met
Insertion
5'-TGG GTT ATT GAT G - 3'
3'-ACC CAA TAA CTA C - 5'
Trp Val Ile Asp
Protéine modifiée

95